

Le Bunchy Top des bananiers (BBTD), maladie virale des bananiers et plantains.

M.L. ISKRA-CARUANA

La maladie du Bunchy Top des bananiers (BBTD), est l'une des plus sévères maladies virales atteignant les bananiers et plantains. Elle a été décrite pour la première fois aux îles Fidji en 1889 (MAGEE, 1953). Elle est présente en Australie, en Asie, en Inde, dans les îles du Pacifique et en Afrique (DALE, 1987).

Cette maladie se caractérise par des stries vert foncé discontinues sur les nervures principales et secondaires des feuilles, du pétiole et le long des gaines formant le pseudotrunc. Ces stries sont appelées «morse code». Les feuilles deviennent étroites et jaunes, regroupées en bouquet en haut de la plante. Le bananier est également atteint de nanisme. Suivant l'âge du plant lors de l'infection il peut ne pas y avoir production de fruits, l'inflorescence ne pouvant sortir du bouquet.

Un virus (BBTV), localisé dans les tissus du phloème, a été associé à cette maladie (MAGEE, 1927).

La propagation de la maladie s'opère selon deux modes : soit par l'intermédiaire d'un puceron inféodé au bananier, *Pentalonia nigronervosa* COQUEREL, suivant le mode persistant ; soit par la culture des rejets contaminés à partir du pied mère.

En aucun cas cette maladie n'a pu être transmise mécaniquement. Toutes ces caractéristiques font que le BBTV est supposé appartenir au groupe des Lutéovirus (SHEPHERD *et al.*, 1981 ; MATTHEWS, 1982).

Le développement d'un contrôle de la maladie, autre que la présence des symptômes, devient une préoccupation importante. Actuellement la zone Amérique centrale, Amérique du Sud et Caraïbes est indemne de virus (DALE, 1987). L'absence de test garantissant l'état sanitaire du matériel végétal freine considérablement l'échange de ce dernier et l'établissement de collections et de banque de gènes (réseau INIBAP, mouvement germplasm).

Dans le domaine de la pathologie, la mise en évidence de virus se fait essentiellement par des techniques immunoenzymatiques type ELISA ou par hybridation moléculaire. Ces méthodes nécessitent la purification du virus ou de son acide nucléique. Le virus associé au Bunchy Top n'ayant jamais été purifié une méthode de purification devait être développée.

Différentes méthodes ont été utilisées, dérivées de celles déjà employées pour purifier soit des lutéovirus infectant des plantes différentes du bananier (TAKANAMI et KUBO, 1979 ; WATERHOUSE et MURANT, 1981), soit d'autres virus infectant le bananier comme le virus de la mosaïque (CMV) (SCOTT, 1963 ; YOT-DAUTHY et BOVE, 1966). Le contrôle de la présence du virus lors des différentes étapes de purification était réalisé, après coloration négative, par microscopie électronique.

Dans un premier temps une méthode de purification utilisant une étape de digestion enzymatique et des clarifications par centrifugations différentielles nous a permis

Photo 1 - Symptômes de Bunchy Top.



PHOTO 2 - Détails de symptômes de Bunchy Top sur gaines (Chine).



d'isoler pour la première fois, après un gradient de saccharose, des particules virales (ISKRA *et al.*, 1989). Toutefois une amélioration de cette méthode s'avérait nécessaire car les quantités de virus obtenues étaient faibles et irrégulières (environ 30 µg pour 200 g de bananier).

Différentes approches ont été envisagées :

- du Triton X100 et du PEG 6000 ont été employés. Toutes les fois, du virus a été isolé mais les fractions purifiées étaient fortement contaminées par du DNA exogène. Aucune contamination de ce type n'était observée avec du bananier sain.

- la variation de molarité du tampon de broyage et le tampon de broyage lui-même n'ont pas permis d'augmenter significativement le rendement de purification. Le tampon citrate de sodium 0,1M est habituellement utilisé pour la purification des lutéovirus (TAKANAMI et KUBO, 1979).

- un deuxième contrôle utilisant un sérum dirigé contre un autre lutéovirus avait été envisagé : une caractéristique importante de ce groupe de virus est que de nombreux membres sont reliés sérologiquement. Malheureusement après ELISA et après immunoelectromicroscopie (IEM) aucun des sérums dirigés contre le BWYV-LS (Beet Western Yellow Virus, souche laitue) (M. LOT, Montfavet), le BYDV-MAV, le BYDV-PAV, BYDV-RPV (Barley Yellow Dwarf Virus) (M. LAPIERRE, Versailles) n'a reconnu le BBTV.

- récemment HEMIDA a montré que l'AYV (Anthriscus Yellow Virus) voisin des lutéovirus nécessitant une purification particulière (HEMIDA *et al.*, 1989). En effet le tampon utilisé était du tampon phosphate 0,06M et de pH basique 8,0 alors que pour les lutéovirus il est recommandé de travailler à pH «acide» 6,0 pour le broyage puis à pH «neutre» 7,2. De plus l'AYV purifié s'est avéré très instable sans chlorure de calcium 0,001M. Cette méthode n'a donné aucun résultat pour le moment avec le BBTV.

D'autres modifications sont à l'étude.

Des fractions de virus purifié, après observation des particules virales en microscopie électronique, ont été injectées à une souris dans le but d'obtenir des anticorps monoclonaux pouvant être utilisés pour détecter le BBTV par ELISA. Lors de la fusion cellulaire 892 clones ont été obtenus. La sélection des hybridomes a été réalisée en éprouvant le surnageant des cultures simultanément, contre les préparations de virus purifié et des broyats de bananier sain, au moyen d'un ELISA. Trois hybridomes seulement ont été sélectionnés (3G3, 7C1, 4B12). Les densités optiques respectives sont : 0,244, 0,114, 0,200 en utilisant les préparations de virus purifié comme antigène et négatives en utilisant les broyats de bananier sain. Aucun résultat n'a été obtenu en employant ces anticorps sur du bananier infecté (broyat ou coupes).

Comme le BBTV reste très difficile à purifier à partir du bananier, la transmission du virus à une autre plante a été entreprise. Pour cela deux voies ont été utilisées :

- la première étant celle de la transmission naturelle par l'insecte vecteur *Pentalonia nigronervosa* COQ., mais également par *Aphis gossypii* GLO. le puceron du cotonnier, et par *Myzus persicae* SULZ. connu comme vecteur de nombreux lutéovirus.

Afin de vérifier l'efficacité des pucerons selon nos conditions de travail, la transmission du BBTV de bananier à bananier a été réalisée. En utilisant *Pentalonia nigronervosa* COQ., dans 100 p. 100 des essais le développement de la maladie était observé témoignant du succès de la transmission. Aucun résultat n'a été obtenu en utilisant *Aphis gossypii* GLO. et *Myzus persicae* SULZ. Ceci pouvait être expliqué par le fait que ces pucerons survivent très difficilement sur bananier. Les essais de transmission à différentes plantes (divers tabacs, des pétunias, des petits pois, divers chénopodes, des pervenches de Madagascar) se sont avérés négatifs à ce jour.

- la deuxième consistait à établir des ponts entre le bananier et la pervenche de Madagascar (*Catharantus roseus*) par l'intermédiaire d'une cuscute (*Cuscuta campestris*). Aucun symptôme témoignant d'une infection n'a été observé sur les différentes pervenches utilisées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DALE (J.L.). 1987.
Banana Bunchy Top : an economically tropical plant virus disease.
Advances in virus research, 33, 301-325.
- HEMIDA (S.K.), MURANT (A.F.) et DUNCAN (G.H.). 1989.
Purification and some particle properties of anthriscus yellow virus, a phloem-limited semi persistent aphid-borne virus.
Ann. Appl. Biol., 114, 71-86.
- ISKRA (M.L.), GARNIER (M.) et BOVE (J.M.). 1989.
Purification of banana Bunchy Trop virus (BBTV).
Fruits, 44 (2), 63-66.
- MAGEE (C.J.P.). 1927.
Investigation on the bunchy top disease of bananas.
Bull. Coun. Sci. Industr. Res. Aust., 30, 64.
- MAGEE (C.J.P.). 1953.
Some aspects of the bunchy top disease of banana and other «Musa» spp.
J. Proc. R. Soc. NSW, LXXXVII, 1-18.
- MATTHEWS (R.E.F.). 1982.
Classification and nomenclature of viruses.
Intervirology, 17 (1-3), 140.
- SHEPHERD (R.J.), FRANCKI (R.I.B.), HIRTH (L.), HOLLINGS (M.), INOUE (T.), MAC LEOD (R.), PURCIFULL (D.E.), SINKA (R.C.), TREMAINE (J.H.), VALENTA (V.) et WETTER (C.). 1976.
New groups of plant viruses approved by the international committee on taxonomy of viruses, September 1975.
Intervirology, 6, 181-184.
- SCOTT (H.). 1963.
Purification of CMV.
Virology, 20, 103-106.
- TAKANAMI (Y.) et KUBO (S.). 1979.
Enzyme assisted purification of two phloems-limited plant virus : Tobacco necrotic dwarf and Potato leafroll.
J. Gen. Virol, 44, 153-159.
- WATERHOUSE (P.M.) et MURANT (A.F.). 1981.
Purification of carrot red leaf virus and evidence from four serological tests for its relationship to luteoviruses.
Ann. Appl. Biol., 97, 191-204.
- YOT-DAUTHY (Danielle) et BOVE (J.M.). 1966.
Identification et purification de diverses souches de virus.
Fruits, 21 (9), 449-466.